Aus der Abteilung für klinische Immunologie des Universitätskrankenhauses
Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Agarelektrophoretische und immunologische Studien an Extrakten der normalen menschlichen Kolonschleimhaut

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Gernot Autenrieth
Arzt aus Nürnberg

1966

Dekan: Professor Dr. med. K. G. Ober
Referent: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 8.Oktober 1966

Sonderdruck

Zeitschrift für

GASTROENTEROLOGIE

Klinik und Praxis der Verdauungskrankheiten

Herausgeber: N. Henning, 852 Erlangen, Fichtestraße 7

Schriftleitung: K. Heinkel, 7 Stuttgart-S, Leonberger Straße 220, und E. Schmid, 24 Lübeck, Kronsforder Allee 71–73

Verlag: Karl Demeter, 8032 Gräfelfing/München, Würmstraße 13

Jahrgang 5 (1967) Heft 5 291 - 298

Aus der Abteilung für klinische Immunologie des Universitätskrankenhauses Erlangen–Nürnberg
(Vorstand: Prof. Dr. F. Scheiffarth)

Agarelektrophoretische und immunologische Studien an Extrakten der normalen menschlichen Kolonschleimhaut

Von F. SCHEIFFARTH, H. GÖTZ, H. WARNATZ und G. AUTENRIETH*)

UNIV. LEIDEN BIBL.

*) D 21

Untersuchungen am Operations- und Biopsiematerial menschlicher Organe sind zu einem festen Bestandteil diagnostischer Methoden geworden. Neben inneren Organen, wie Leber und Niere, interessieren hier verständlicherweise besonders die Schleimhäute der relativ gut und gefahrlos zugänglichen Organe des Verdauungstraktes, wie Magen und Dickdarm. Auf der Suche nach grundsätzlichen Erkenntnissen über das so gewonnene Gewebsmaterial bieten sich heute neben histologischen auch eiweißchemische und immunologische Methoden zur Analyse bzw. Diagnostik an.

In vorliegender Arbeit sollte versucht werden, mit Hilfe der Elektrophorese im Gelmilieu in Kombination mit Farb- und Fermentnachweisreaktionen sowie mit immunologischer Technik am Gewebsschnitt sowie am Organextrakt Aufschluß über die Proteine der Dickdarmschleimhaut zu gewinnen. Dabei war beabsichtigt, sowohl die Reihe bisheriger eigener (8, 10–14, 30, 32–35, 37) und auch anderer Arbeiten über Organanalysen (5–7, 19, 20, 22–26, 28, 29, 38, 44) zu ergänzen, als auch eine Grundlage für vergleichende Untersuchungen an der pathologisch veränderten Schleimhaut des Kolons – etwa bei Colitis ulcerosa oder bei Karzinomen – zu schaffen.

Versuchsanordnung und Methodik:

Zur Untersuchung gelangten Schleimhautextrakte von insgesamt 17 verschiedenen Präparaten des menschlichen Kolons. Unter ihnen befanden sich Homogenate von 2 unauffällig befundenen Kolonpartien bei Kolontumoren**), ferner der Extrakt aus 7 Schleimhautbiopsien, zur Hauptsache schließlich Kolonschleimhaut der menschlichen Leiche (14 Präparate). Diese Leichenpräparate wurden nicht später entnommen als 12 Std. post mortem, sie wiesen histologisch keine krankhaften Veränderungen auf***).

Die einzelnen Extrakte wurden folgenden Analysen unterworfen:

Agarelektrophoretische Differenzierung mit nachfolgender Protein-, Kohlenhydrat- und Lipoproteidfärbung sowie mit Darstellung der Fermentaktivitäten der alkalischen Phosphatase, Amylase und der Oxydase.

Immunologische Differenzierung mit Hilfe der zweidimensionalen Immunodiffusion nach *Ouchterlony* sowie der Immunoelektrophorese unter Verwendung von Anti-Kolonschleimhaut-Serum, Antihumanserum sowie kreuzweise absorbierten Immunseren.

Fluoreszenzoptische Untersuchungen unter Verwendung eines fluoreszeierten Anti-Kolonschleimhaut-Serums, das mit Humanalbumin absorbiert war.

**) Die Operationspräparate verdanken wir der Chirurg. Univ.-Klinik Erlangen (Dir.: Prof. Dr. *G. Hegemann*), die Leichenorgane dem Pathologischen Institut der Univ. Erlangen–Nürnberg (Dir.: Prof. Dr. *E. Müller*).

***) Die histologische Beurteilung sämtlicher untersuchter Präparate verdanken wir dem Pathologischen Institut der Univ. Erlangen–Nürnberg (Dir.: Prof. Dr. *E. Müller*).

Aufbereitung der Kolonschleimhaut (s. auch bei 10): Nach zweistündigem Wässern unter fließendem Wasser wurden von den Dickdarmpräparaten Mukosa mit Submukosa vorsichtig abgeschabt und unter Zugabe von physiol. NaCl im Verhältnis 1 : 4 im Ultra-Turrax*) zertrümmert. Der so gewonnene Organauszug wurde sodann 30 min lang bei 15 000 U/min in der Kühlzentrifuge bei + 4° C scharf zentrifugiert, der Überstand durch Dialyse gegen 20%iges Kollidon auf einen Gesamteiweißgehalt von 3–5 g% eingeengt**). *Elektrophorese im Agargel:* Die einfache Elektrophorese im Agargel wurde nach *Grabar* und *Williams* (9, 16–18, 45) vorgenommen. Für die zusätzlichen Farb- und Fermentreaktionen wurde nach dem einschlägigen Schrifttum verfahren; Protein-, Kohlenhydrat- und Lipoproteidfärbungen siehe bei *Grabar* und *Burtin* (17), *Uriel* (in 17, 40–42) sowie eigene Mitteilungen (9, 14); alkalische Phosphatase-Reaktion s. *Scheiffarth* u. Mitarb. (36); Amylase-Reaktion s. *Scheiffarth* u. Mitarb. (30); Nachweis oxydaseaktiver Komponenten siehe bei *Uriel* (40) sowie in eigenen Mitteilungen (31).

Zweidimensionale Immunodiffusion nach Ouchterlony: Methodische Einzelheiten mögen dem einschlägigen Schrifttum entnommen werden (27).

Immunoelektrophorese: Die Immunoelektrophorese wurde im wesentlichen nach *Grabar* und *Williams* (s. o.) vorgenommen.

Anti-Kolonschleimhaut-Serum: Es wurden 2 Kaninchen mit einem Gewicht von 2500 g mit dem oben angegebenen Kolonschleimhautextrakt 19 Tage lang behandelt. Sie erhielten am 1. Tag der Sensibilisierung 3 ml s.c. und 3 ml i.m. eines Gemisches aus 1 ml Kolonschleimhautextrakt und 5 ml Freundschem Adjuvans als Emulsion appliziert. Darüber hinaus wurden jedem Tier am gleichen Tag 0,5 ml des klaren Extraktes ohne Zusatz von Freundschem Adjuvans i.v. injiziert. Es folgten für jedes Kaninchen jeden 2. Tag, insgesamt 9mal, weitere i.v. Injektionen von 0,5 ml Extrakt. Vor Sensibilisierungsbeginn sowie in jeweils 10tägigen Abständen wurden im Ouchterlony-Schalentest die Präzipitationsreaktionen zwischen den bis dahin gebildeten Anti-Kolonschleimhaut-Antikörpern und dem Kolonschleimhautextrakt geprüft und das Optimum der Antikörperausbeute festgestellt. Die so gewonnenen Immunseren wurden für die oben beschriebenen immunologischen Analysen wie auch im Fluoreszenzversuch verwendet.

Antihumanseren: Es wurden die konventionellen Immunseren der Behringwerke***) (Antihumanserum vom Kaninchen) sowie der Hyland-Laboratories**) verwendet. Für das mit Kolonextrakt absorbierte Humanserum wurden 3 ml des 1 : 1 verdünnten Anti-Humanserums mit 0,7 ml des 1 : 2 verdünnten Kolonschleimhaut-Extraktes bei 37° C 60 min inkubiert, über Nacht in den Kühlschrank bei + 4° C gestellt, zentrifugiert und der Überstand sorgfältig abpipettiert.

Bei der Absorbierung des Anti-Kolonschleimhaut-Serums mit Humanalbumin für die Fluoreszenzversuche wurden 1,5 ml einer 1 : 64 verdünnten 2%igen Humanalbuminlösung mit 1,5 ml Anti-Kolonschleimhaut-Serum versetzt.

Fluoreszenzmikroskopie (n. *Coons* u. Mitarb. 4, 5, 37): Bei der Rektoskopie wurde Schleimhautmaterial durch Saugbiopsie gewonnen, in physiol. Kochsalzlösung eingebracht und aus dieser in Gelatine eingebettet. Der das Gewebsstückchen enthaltende kleine Gelatinewürfel wurde mit Kohlensäureschnee eingeeist und in der Tiefkühltruhe aufbewahrt. Die Anfertigung der Schnitte erfolgte im Kryostaten bei – 15 bis – 20° C, ihre Fixierung in Methanol mit anschließender Wässerung von 30 min.

Zur Fluoreszeierung des Serums wurde mit Humanalbumin absorbiertes Anti-Kolonschleimhaut-Serum verwendet, dessen γ-Globuline durch Ammoniumsulfatfällung gewonnen wurden. Der Eiweißgehalt wurde mit der Biuret-Reaktion nach *Weichselbaum* (1, 43) bestimmt. Die γ-Globuline wurden mit Fluoreszeinisothiozyanat in einem Verhältnis von

*) Fa. *Janke* und *Kunkel*.
**) Hyland-Laboratories, Los Angeles, Vertrieb Travenol-International, München.
***) Behringwerke, Marburg/Lahn.

0,01 mg/mg Eiweiß behandelt. Die Reinigung des markierten Serums erfolgte durch Dialyse gegen gepufferte physiol. Kochsalzlösung bzw. durch Trennung an der DEAE-Zellulosesäule (15, 37). Durch Druckdialyse mit Stickstoff wurde anschließend eingeengt.

Die Inkubierung der Gewebeschnitte erfolgte im Brutschrank bei 37° C für 30 min mit dem farbstoffmarkierten Serum.

Die Auswertung erfolgte mittels Fluoreszenzmikroskop. Unbehandelte Präparate wurden auf Spontanfluoreszenz untersucht.

Ergebnisse:

Agarelektrophorese: Bei Färbung mit Amidoschwarz 10B fielen in den analysierten Proben von Kolonschleimhaut-Extrakten im wesentlichen bis zu 11 Komponenten auf, die sich von einem Bereich weit anodisch vor den Albuminen eines unter gleichen Bedingungen getrennten menschlichen Serums bis in die Zone der γ-Globuline erstreckten. Unter diesen Proteinen imponierten vor allem 4 schmalbasige, wenn auch in ihrer Konzentration unterschiedlich darstellbare Komponenten im Präalbumin- und Albuminbereich, weiterhin ein Komplex zwischen Albumin und Auftragestelle, ferner bis zu 3 Fraktionen in der Zone der β- und langsam wandernden γ-Globuline, schließlich eine scharf begrenzte Proteinfraktion im letzten Drittel des γ-Bereiches. Die Zone zwischen Albumin und Auftragestelle war in den meisten Analysen nochmals in 2–3 Komponenten differenziert (Abb. 1a, b).

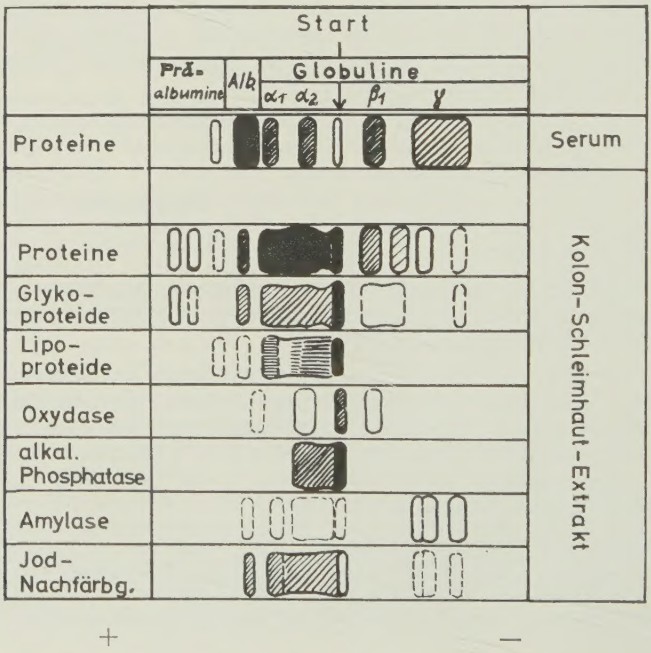


Abb. 1a: Halbschematische Übersicht über die elektrophoretisch differenzierbaren löslichen Proteine, Glykoproteide, Lipoproteide und einzelner Fermente im Homogenat der normalen menschlichen Kolonschleimhaut.

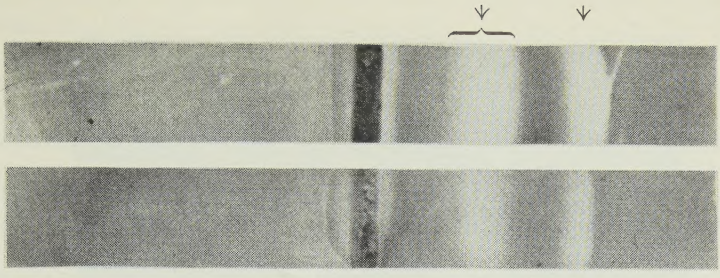


Abb. 1b: Amylaseaktive Zonen in einem agarelektrophoretisch getrennten Homogenat der normalen Kolonschleimhaut. Während der obere Streifen 2 relativ starke Aufhellungszonen im Bereich der β_2/γ-Globuline aufweist, erkennt man im unteren Präparat eine zusätzliche Doppelung der amylaseaktiven Komponente, die der Auftragestelle näher ge legen ist; die Fermentaktivität ist hier insgesamt etwas geringer.

Bei Färbung mit Schiffschem Reagenz imponierte eine intensive Rotviolett-Färbung im α_1/α_2-Globulin-Bereich und unmittelbar um die Auftragestelle. Weit weniger kräftig, jedoch noch deutlich färbbar, waren darüber hinaus die extrem anodisch wandernden Fraktionen, ferner 2 Komponenten im β_1/β_2-Globulin-Bereich sowie eine schmalbasige Fraktion im letzten Drittel der γ-Globulin-Zone (Abb. 1 b). Bei Färbung mit Sudan-Schwarz B zeigte die Auftragestelle eine starke Anfärbbarkeit. Außerdem kam im Bereich der α_2-Globuline eine zarte Färbung zur Darstellung.
Bei der Reaktion mit p-Phenylendiamin zur Prüfung auf oxydaseaktive Komponenten ließen sich, abgesehen von einer intensiven Braunfärbung an der Auftragestelle, im Bereich der schnellwandernden α_1-, der α_2- und auch der β-Globuline oxydaseaktive Fraktionen nachweisen.
Alkalische Phosphatase-Aktivität war an den Komplex der α_2-Globuline gebunden, außerdem an nichtgewanderte Proteine im Bereich der Auftragestelle. Dabei erschien die Farbreaktion, verglichen mit einem Serum, wesentlich stärker.
Schließlich konnten mit der Technik zum Nachweis amylaseaktiver Komponenten im Kolonschleimhaut-Extrakt 2 scharf gegeneinander abgrenzbare Fraktionen nachgewiesen werden. Die eine lag im β_2-Bereich; sie ist die offenbar stärker fermentaktive und vielfach gedoppelt. Die andere lag im γ-Globulin-Bereich. Schwache Aufhellungszonen ließen sich an der Auftragestelle und unmittelbar anodisch vor ihr (bis in den Bereich der Albumine) aufzeigen. Diese Aufhellungen waren allerdings im wesentlichen durch eine Rotviolett-Tönung charakterisiert. Nach Wässerung der Platten und Ausfällung mit 2%iger Essigsäure-Lösung ergab sich nach folgender erneuter Überschichtung mit 5%iger wässeriger Lösung der offizinellen Jod-Lösung eine deutliche Färbung vom Auftragestrich bis in den Bereich der schneller wandernden α-Globuline bzw. des Albumins.

Immunologische Ergebnisse:

Zweidimensionale Immunodiffusion (Abb. 2): Die mit den verschiedenen Versuchsanordnungen erzielten Präzipitationsphänomene zeigten im einzelnen folgendes: Bei Verwendung eines Anti-Humanserums (AHS) ließen sich im Kolonschleimhaut-Extrakt (CE) insgesamt 5 (7) sichere Präzipitate nachweisen. Bei Vergleich mit einem

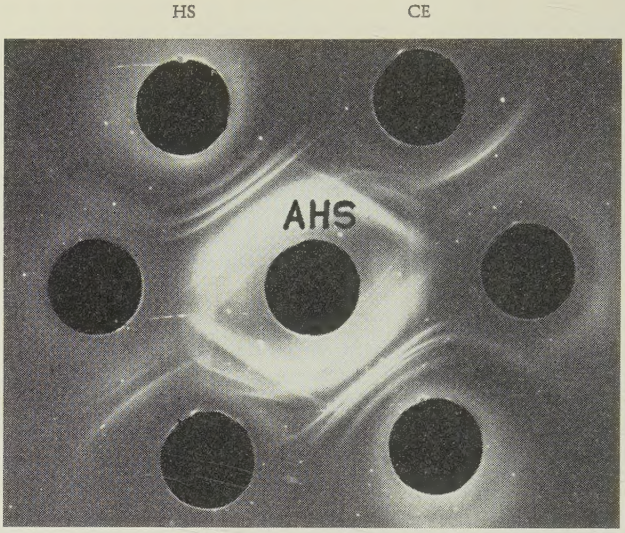


Abb. 2: Immunologische Analysen mit der zweidimensionalen Immunodiffusion nach *Ouchterlony*. Wiedergegeben ist hier der Analysensatz zwischen Anti-Kolonserum, Anti-Humanserum sowie absorbiertem Anti-Kolonserum gegen Kolonschleimhaut-Homogenat aus menschlicher Kolonschleimhaut bzw. gegen Humanserum (Normalserum). Man erkennt deutlich die zahlreichen Präzipitationssysteme zwischen Normalserum und spezifischem Anti-Humanserum, ferner 5 Präzipitationslinien zwischen Kolonschleimhaut und spezifischem Anti-Kolonserum. Gut erkennbar sind außerdem die Identitäts-, partiellen Identitäts- sowie die Kreuzungsreaktionen zwischen den beiden spezifischen Systemen. Mit dem absorbierten Anti-Kolonserum sind gegen Kolonschleimhaut-Homogenat nur noch 2 Komponenten, gegen Humanserum eine Präzipitationslinie erkennbar.

CE = Kolonschleimhaut-Homogenat (aus menschlicher Kolonschleimhaut)
HS = Humanserum (Serum eines Gesunden)
ACE = Anti-Kolonschleimhaut-Serum
ACE abs. = Mit Humanserum bereinigtes Anti-Kolonschleimhaut-Serum
AHS = Antihumanserum

Humanserum (HS) konnte dabei gezeigt werden, daß wenigstens 2 der Kolonschleimhautproteine Identität, 3 weitere Teilidentität besaßen und schließlich eine stark auspräzipitierte Komponente ein eindeutiges Kreuzungsphänomen mit den Proteinsystemen des normalen menschlichen Serums aufwies.

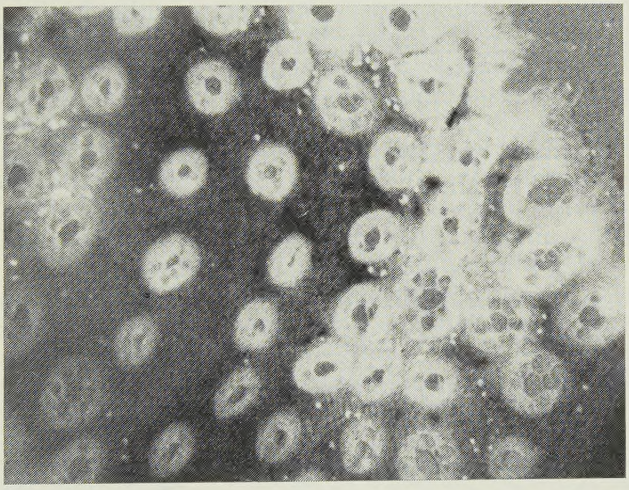
Kolonschleimhaut-Extrakt ergab gegen sein spezifisches Anti-Kolonschleimhaut-Serum (ACE) bis zu 5 (6) sichere Präzipitate, von welchen wenigstens eine mit den Präzipitationslinien, die sich zwischen dem Humanserum und Anti-Kolonimmunserum ausgebildet hatten, Identität, die übrigen Teilidentität bzw. Kreuzungsreaktionen zeigten.

Nach Absorption des AHS durch CE und des ACE durch HS waren im Ansatz der bereinigten Antiseren gegen Kolonschleimhaut-Extrakt nur noch 1 bzw. 2 schwache Präzipitationslinien darstellbar (Abb. 2).

Immunoelektrophorese: Damit konnte gezeigt werden, daß der Kolonschleimhaut-Extrakt mit einem Antihumanserum eine Reihe vom Präzipitationsreaktionen eingeht, die sich, verglichen mit Serum, von Albuminbereich bis in die Zone der γ-Globuline erstreckten. Im Gebiet der α_2- und schneller wandernden α_1-Globuline

zeigten sich konstant 2 Präzipitationslinien, die als immunologisch identisch ineinander übergingen. Die stark anodisch wandernde Linie tangierte den Präzipitationsbogen im Albuminbereich. Mit dem Anti-Kolonserum konnten gegen den Kolonschleimhaut-Extrakt insgesamt bis zu 5 schwache Präzipitationsbögen dargestellt werden, die sich vorwiegend im Bereich der β-Globuline, und außerdem im Bereich der Albumine bzw. schnell wandernden α-Globuline zur Darstellung bringen ließen. Nach Absorption der Antiseren mit den konträren Antigensubstraten (HS und CE) ließen sich jeweils nur 1 bzw. 2 schwache Präzipitationslinien nachweisen.

Fluoreszenzmikroskopie: Fluoreszenzserologisch zeigte sich nach Inkubierung von Schnitten normaler Kolonschleimhaut mit markiertem Kaninchen-Immunserum eine Fluoreszenz des Zytoplasmas der Becherzellen der Kolonschleimhaut ohne Aus-



3a

3b

Abb. 3a, b: Fluoreszenzserologische Befunde nach Inkubierung menschlicher Kolonschleimhaut mit einem fluoreszenzmarkierten Kaninchen-Antikolonschleimhaut-Serum.

sparung der Zellkerne. Der Schleimpropf färbte sich nicht an (Abb. 3 a, b). In einigen Präparaten konnte eine Fluoreszenz von Anteilen des interstitiellen Gewebes beobachtet werden. Unbehandelte Präparate wiesen z. T. eine Spontanfluoreszenz im Bereich des Interstitiums auf.

Diskussion

Kolonschleimhaut-Extrakt weist nach elektrophoretischer Trennung im Agargel und nachfolgender Färbung mit Amidoschwarz 10B 8 einwandfrei differenzierbare Komponenten auf, wobei der α_2-Bereich wahrscheinlich weitere 3 Unterfraktionen enthält. Von einem Humanserum unterscheidet sich der Kolonschleimhaut-Extrakt erstens durch seine insgesamt größere Trennstrecke, wobei vor allem anodisch wandernde Komponenten auffallen; ferner dadurch, daß eine den Albuminen vergleichbare Fraktion in offenbar nur geringer Konzentration vorhanden ist, und schließlich dadurch, daß im Bereich der Auftragestelle eine intensive Färbung mit Amidoschwarz sichtbar wird, die auf nicht gewanderte Proteine hinweist. Möglicherweise handelt es sich hier um nicht wanderungsfähige bindegewebige Anteile. Gemessen an der Farbintensität findet sich der stärkste Proteinanteil in den anodisch wandernden Fraktionen, unter ihnen vor allem ein Komplex in der Zone zwischen Auftragestelle und Albumin. Bei diesen Proteinen handelt es sich infolge der Färbung mit Schiffschem Reagenz vorwiegend um Glyko- bzw. Mukoproteide, wobei hier offenbar hohe Glykoproteidkonzentrationen vorliegen. Sie stellen wohl Schleimhautsubstanzen aus den drüsigen Anteilen der Schleimhaut des Kolons dar.

An Lipoproteiden scheint der Schleimhautextrakt außerordentlich arm zu sein.

Oxydaseaktivität konnte im Extrakt der Kolonschleimhaut praktisch an gleicher Stelle wie im Serum – nämlich vorwiegend im α_2-Globulin-Bereich – nachgewiesen werden. Es bestehen Anhaltspunkte dafür, daß im Kolonschleimhaut-Extrakt noch 1–2 weitere Komponenten im α_1- bzw. β_1-Globulin-Bereich mit Oxydaseaktivität existieren. Sie finden sich hier jedoch in geringerer Konzentration.

Desgleichen war der lokalisatorische Nachweis einer alkalischen Phosphatase-Aktivität im α-Bereich praktisch mit dem des Serums vergleichbar. Ihre Konzentration fand sich jedoch im Kolonschleimhaut-Extrakt weitaus höher als im Serum eines Gesunden.

Überraschend waren die Befunde über stärkeabbauende Fermente, von welchen 2 scharf abgrenzbare Fraktionen im β/γ-Globulin-Bereich nachweisbar wurden. Ob es sich hierbei um Isoamylasen mit lediglich unterschiedlicher elektrophoretischer Wanderungsgeschwindigkeit, aber gleichartigen biologischen Eigenschaften, oder um zwei verschiedene Fermente, etwa Schleimhaut- und Bakterienamylase, handelt, ist allein auf Grund dieser Analysen nicht sicher zu entscheiden. Die Aufhellungszone im α_2-Bereich dürfte schwerlich einer spezifischen Gewebsamylase zuzuschreiben sein. Wahrscheinlich handelt es sich hier um ein Phänomen der Glykoproteide, zumal bei nachfolgender Wässerung der Agarplatten und nochmaliger Behandlung mit Jodlösung an dieser Stelle eine intensive isolierte Jod-Stärke-Reaktion zu demonstrieren war.

Die immunologischen Ergebnisse zeigen, daß nahezu sämtliche Proteine des Kolonschleimhaut-Extraktes mit den Serumeiweißkörpern der gleichen Spezies immunologische Verwandtschaft, z. T. sogar Identität aufweisen. Lediglich 1–2 Fraktionen scheinen organspezifisch zu sein. Sie gehören dem α_2/β_1-Globulin-System an.

Die fluoreszenzserologischen Untersuchungen wurden vorgenommen, um histochemisch die antigen wirksamen Proteinsysteme des Kolonschleimhaut-Extraktes

nachzuweisen. Das Immunserum vom Kaninchen enthielt demnach im wesentlichen Antikörper gegen die Zytoplasmafraktionen des Extraktes, während antinukleäre Antikörper nicht sicher nachgewiesen werden konnten. Die Ursache für die unterschiedliche Antigenität des Vollextraktes mag einerseits im Aufbereitungsmodus der Kolonschleimhaut, andererseits in der unterschiedlichen antikörperinduzierenden Wirkung der Extraktbestandteile zu suchen sein.

Zusammenfassung:

Extrakte normaler Kolonschleimhaut wurden agarelektrophoretisch analysiert. Bei agarelektrophoretischer Analyse gelangten bis zu 11 Fraktionen zur Darstellung. Im anodischen Bereich handelt es sich vorwiegend um Glykoproteide und Lipoproteide. Unter den Fermenten fielen eine Anreicherung von alkalischer Phosphatase im α_2-Globulin-Bereich und 2–3 Isoenzyme der Amylase im β/γ-Globulin-Bereich auf. Immunologisch zeigten sich bei Vergleich mit normalem Humanserum zwischen den jeweils spezifischen Proteinsystemen neben einer Reihe von Identitäts- bzw. Teilidentitätsreaktionen 1–2 Kreuzungsphänomene, die auf die Existenz organspezifischer Proteine hinweisen. Auch im Absorptionsversuch blieben jeweils 1–2 Komponenten erhalten.

Fluoreszenzserologisch ließ sich eine spezifische Fluoreszenz des Zytoplasmas der Becherzellen, nicht aber der Muzine nachweisen.

Literatur:

1. Berg, G., F. Scheiffarth, H. Schön u. *H. Götz:* „Bluteiweiß" in: N. Henning, Klinische Laboratoriumsdiagnostik, Urban und Schwarzenberg, München–Berlin, 3. Auflage 1966. – *2. Broberger, O.* u. *P. Perlmann:* J. exp. Med. *117/5* (1963) 705. – *3. Coons, A. H.* u. *M. Kaplan:* J. exp. Med. *91* (1950) 1. – *4. Coons, A. H., H. J. Creech* u. *R. N. Jones:* Proc. Soc. exp. Biol. N. Y. *47* (1941) 200. – *5. Cremer, H. D.* u. *J. Führ:* In: *Hoppe-Seyler/Thierfelder,* Handbuch d. physiol. und path.-chem. Analyse, Springer-Verlag, Berlin, 10. Aufl. Bd. II, 447 (1953). – *6. Demling, L.:* Klin. Wschr. *30* (1952) 74; Gastroenterologia *81* (1954) 130. – *7. Demling, L., H. Kinzlmeier* u. *N. Henning:* Z. ges. exper. Med. *122* (1954) 416. – *8. Götz, H.:* Med. u. Ernährung 7 (1966) 29. – *9. Götz, H., G. Berg* u. *F. Scheiffarth:* Z. Immun.-Forsch. *114* (1957) 72. – *10. Götz, H.* u. *F. Scheiffarth:* Klin. Wschr. *41* (1963) 587. – *11. Götz, H., F. Scheiffarth* u. *N. Al-Saffar:* Med. Exp. *10* (1964) 27. – *12. Götz, H., F. Scheiffarth* u. *I. Dübeler:* Gastroenterologia *98* (1962) 30. – *13. Götz, H., F. Scheiffarth* u. *G. Gast:* Z. Gastroenterologie 2 (1964) 148. – *14. Götz, H., F. Scheiffarth* u. *D. Hoffmann:* Z. Gastroenterologie 2 (1964) 76. – *15. Goldstein, G., J. Slizys* u. *M. R. Chase:* J. exp. Med. *114* (1961) 89. – *16. Grabar, P.:* Bull. Soc. Chim. Biol. *36* (1954) 65; Dtsch. med. Wschr. *79* (1954) 1916; Zbl. Bakteriol. *164* (1955) 15. – Behringwerke-Mitteilungen *30* (1955) 23. – *17. Grabar, P.* u. *P. Burtin:* Analyse immunoélectrophorétique. Masson et Cie., Paris 1960; Immunoelektrophoretische Analyse. Elsevier Publishing Co., Amsterdam 1964. – *18. Grabar, P.* u. *C. A. Williams:* Biochem. Biophys. Acta *17* (1955) 67. – *19. Kaplansky, S. J., A. E. Gurvitsch* u. *L. K. Staroselceva:* Biokhimia *23* (1958) 114. – *20. Kessel, M.:* Versuche zur Organ-Immunoelektrophorese. Protides of Biol. Fluids, 7th Colloqu. 1959, S. 55. Elsevier Publishing Co., Amsterdam 1960. – *21. Klavins, J. V.:* J. Amer. Med. Ass. *183* (1963) 547. – *22. Koizumi, M.:* Okayama-Igakkai Zasshi *47* (1936), Mf. Ber. ges. Physiol. *90* (1936) 405. – *23. Landsteiner, K.:* The specifity of serological reactions. Rev. Ed. Harvard University Press (1945). – *24. Müting, D.:* Der Aminosäurehaushalt des Menschen. Editio Cantor, Antendorf 1958. – *25. Nachkov, D.* u. *O. Nachkova:* Études immunoélectrophorétiques sur les protéins des tissues hépatiques normaux et infectés par virus. Institut d'Immunologie, Sofia 1960. – *26. Ott, H., F. Lohß* u. *J. Gerbely:* Klin. Wschr. *36* (1958) 383. – *27. Ouchterlony, Ö.:* Acta path. microbiol. Scand. *26* (1949) 507. – *28. Rapp, W., S. B. Aronson, P. Burtin* u. *P. Grabar:* J. Immunol. *92* (1964) 579. – *29. Rapp, W.* u. *P. Burtin:* Gastroenterologia *102* (1964) 355. – *30. Scheiffarth, F.* u. *H. Götz:* Klin. Wschr. *42/3* (1964) 130. – *31. Scheiffarth, F., H. Götz* u. *F. Czagany:* Med. Welt *28* (1961) 1449. – *32. Scheiffarth, F., H. Götz* u. *S. Ebert:* Clin. Chim. Acta *14* (1966), 519. – *33. Scheiffarth, F., H. Götz* u. *D. Hoffmann:* Z. klin. Chem. *2/5* (1964) 142. – *34. Scheiffarth, F., H. Götz* u. *G. Scherntbanez:* Clin. Chim. Acta 6 (1961) 481. – *35. Scheiffarth, F., H. Götz* u. *G. Thuma:* Clin. Chim. Acta 7 (1962) 355. – *36. Scheiffarth, F., H. Warnatz* u. *H. Götz:* Med. Welt *43* (1961) 2216. – *37. Scheiffarth, F., H. Warnatz, H. Götz* u. *G. Kettner:* Z. Gastroenterologie 2 (1964) 279. – *38. Schwenke, K. D.:* Z. Krebsforsch. *68* (1966) 112. – *39. Soergel, K. H.* u. *F. I. Ingelfinger:* Gastroenterology *47* (1964) 610. – *40. Uriel, J.:* Bull. soc. chim. biol. *39* Suppl. I (1957) 105. – *41. Uriel, J.:* Clin. Chim. Acta 3 (1958) 234. – *42. Uriel, J.* u. *P. Grabar:* Ann. Inst. Pasteur *90* (1956) 429. – *43. Weichselbaum, T. E.:* Amer. J. clin. Path. *10* (1946) 40. – *44. Wieme, R. J.* u. *M. Rabaey:* Ärztl. Laborat. *3* (1955) 99. – *45. Williams, C. A.* u. *P. Grabar:* J. Immunol. *74* (1955) 158.

Anschrift der Verfasser: Prof. Dr. F. Scheiffarth, Dr. H. Götz, Dr. H. Warnatz, Abteilung für klinische Immunologie des Universitätskrankenhauses Erlangen–Nürnberg, 8520 Erlangen, Krankenhausstraße 12; Dr. G. Autenrieth, II. Medizin. Univ.-Klinik, 8 München.

L E B E N S L A U F

Am 4.3.1940 wurde ich, Gernot Autenrieth, als erstes Kind des Facharztes Dr. med. Karl Autenrieth und seiner Ehefrau Dr. med. Edeltraud Autenrieth in Nürnberg geboren.

Von 1946 bis 1950 besuchte ich die Volksschule, trat dann in das Neue Gymnasium Nürnberg ein, wo ich 1959 die Reifeprüfung ablegte.

Im November 1959 immatrikulierte ich mich an der Universität Erlangen, um Medizin zu studieren. Im SS 1960 legte ich dort das Vorphysikum ab, im WS 1961/62 das Physikum. Während des SS 1962 studierte ich an der Universität Kiel, im WS 1962/63 in Innsbruck. Nach Erlangen zurückgekehrt, bestand ich dort im Sommer 1965 (10.August) das Medizinische Staatsexamen.

Seit dem 1.September 1965 bin ich an der Chirurgisch-gynäkologischen Privatpraxis Dr. Zimmermann in München als Medizinalassistent tätig. Als Berufsziel schwebt mir Innere Medizin vor.

München, den 27.Juli 1966

Gernot Autenrieth